



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J2-3639
Naslov projekta	Novi lipidni modelni sistemi za določitev mehanizmov elektroporacije
Vodja projekta	10268 Damijan Miklavčič
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	16854
Cenovni razred	B
Trajanje projekta	05.2010 - 04.2013
Nosilna raziskovalna organizacija	1538 Univerza v Ljubljani, Fakulteta za elektrotehniko
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	302 ONKOLOŠKI INŠTITUT LJUBLJANA 481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	2 TEHNIKA 2.06 Sistemi in kibernetika 2.06.07 Biomedicinska tehnika
Družbeno-ekonomski cilj	07. Zdravje
Raziskovalno področje po šifrantu FOS	2 Tehniške in tehnološke vede 2.06 Zdravstveni inženiring

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

2. Povzetek raziskovalnega projekta¹

SLO

V okviru projekta smo preučili možnost uporabe novega sistema za vnos biološko aktivnih učinkovin, ki smo jih vgradili v stabilne umetne liposome, zgrajene iz lipidov arhej, te vnesli v celico, vendar zaradi visoke stabilnosti arheosomov nismo dosegli sproščanja učinkovin z elektroporacijo le-teh z električnimi pulzi. V okviru projekta smo izpopolnili tudi dosedanje numerične modele elektroporacije na nivoju membrane, celice in tkiva. Ti modeli so pokazali zakaj nismo mogli elektroporirati arheosomov, saj imajo le-ti izredno visok prag poracije. Uporabnost liposomov v kliniki je že doslej vzpodbujala raziskave in razvoj novih, učinkovitejših lipidnih zgradb liposomov. Liposomi iz lipidov arhej (arheosomi) so tako kemično kot fizikalno bistveno bolj stabilni od navadnih liposomov in so kot taki obetavni kandidati za vnos snovi v celico, saj je pričakovati njihovo obstojnost tudi v notranjosti celice.

V zadnjih letih je razvoj tehnologije omogočil generiranje izredno kratkih in močnih električnih pulzov, s katerimi je mogoče doseči elektroporacijo membran organelov v celični notranjosti. Ta obetavna metoda (nanosekundna elektroporacija) omogoča elektroporacijo postendocitotskih veziklov, ki privede do sproščanja vsebine iz njihove notranjosti v citosol. To metodo smo uporabili za elektroporacijo internaliziranih liposomov napolnjenimi z učinkovinami.

Čeprav se področje uporabe elektroporacije (tudi nanosekundne) hitro širi, mehanizmi tega pojava in rezultirajočih učinkov, predvsem transmembranskega transporta, še niso natančno raziskani in pojasnjeni. V projektu smo izboljšali razumevanje in poznavanje fizikalnih in bioloških procesov, na katerih temeljita elektroporacija in transport snovi skozi elektroporirano membrano. Raziskali smo električne lastnosti lipidnih dvoslojev, celic in tkiv, pa tudi povezave med zunajceličnim električnim poljem in transportom skozi membrano.

Razvili smo lipidne sisteme iz različnih kombinacij več vrst lipidov, od čistih arhealipidov do mešanic z običajnimi fosfolipidi, tako v ravninskih lipidnih dvoslojih kot v veziklih. Ti sistemi so omogočili karakterizacijo sestave in biofizikalnih lastnosti zgrajenih membran. Z eksperimenti na teh sistemih in simulacijami molekularne dinamike lipidov smo poglobili razumevanje mehanizmov elektroporacije in transporta na molekularnem nivoju. Preučili smo modele, ki opisujejo nastanek por v lipidnih dvoslojih, in jih uporabili za optimizacijo elektrozlivljanja in interpretacijo eksperimentalnih rezultatov. Ugotovili smo, da so arheosomi netoksični za nekatere celice, zelo stabilni in imajo zelo visok prag elektroporacije. Prag elektroporacije je tako visok, da ga z uporabljenimi elektroporatorji nismo uspeli preseči. Simulacije molekularne dinamike so potrdile zelo visok prag elektroporacije in tvorbo hidrofobnih por, ki pa ne omogočajo prehoda velikih molekul skozi membrano.

ANG

In scope of this project we designed a novel delivery system for various biologically active substances by encapsulating them in artificial liposomes made of archaeal lipids, delivering the liposomes into cells. Due to high stability of vesicles, we were not able to release the substance into the cytosol by nanosecond electroporation. In addition, we provided improved numerical models of electroporation at the level of membrane, cell and tissue. The models showed that electroporation thresholds of archaeosomes are very high. Archaeosomes are chemically and physically more stable than regular liposomes, therefore are good candidates to introduce substance into the cells.

In the past few years, manipulation of cell organelle membranes has become accessible by the use of extremely strong and short (tens to hundreds of nanoseconds) electric pulses. This promising method is termed nanosecond electroporation and enables e.g. electroporation of postendocytotic vesicles, leading to release of vesicle content into the cytosol. We used this new method to electroporate the internalized liposomes pre-loaded with drugs.

Although the use of electroporation (including nanosecond electroporation) is increasing rapidly, the mechanisms and the related processes, such as transmembrane transport, are still poorly understood. Now we have better understanding of the fundamental biological and physical processes of electroporation and of the mechanisms involved in electroporation-mediated molecular transport across the plasma or liposome membrane. We studied electrical properties of lipid bilayers, cells and tissues, and the interactions between the external electric field and the transport across the cell membrane.

New lipid systems were used, composed of very different lipids, such as pure archaeal or mixed lipids, forming planar lipid bilayers and vesicles. These different systems allow full characterization of membrane composition and its biophysical properties. Experiments on these systems and molecular dynamics simulations were used to understand the mechanisms of electroporation and related transport at the molecular level. We find out very high electroporation threshold by experiments and simulations. Simulations showed formation of conducting hydrophobic pore, which do not allow transport of large molecule through membrane.

3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu²

DS 1 (Ravninski lipidni dvosloji):

Zgradili smo sistem za merjenje lastnosti ravninskih lipidnih dvoslojev, katerega posebnost je regulacija temperature ravninskega lipidnega dvosloja med 15 °C in 55 °C[1]. Z novo merilno napravo smo izmerili kapacitivnosti in porušitvene napetosti arhealnih ravninskih lipidnih dvoslojev, ki nakazujejo na manjše kapacitivnosti in višje porušitvene napetosti kot pri

fosfolipidih.

Lipidi membrane arhej *A. pernix* sestavljata dve vrsti lipidov AI in AGI. Obe vrsti imata razvejane lipidne repe, namesto esterskih imata etrske vezi in lipidne glave so sestavljene iz sladkorjev (inozitol in glukoza). S primerjavo lipidnih dvoslojev zgrajenih iz DPPC, DPhPC-ester in DPhPC-eter smo ugotovili, da dodatne metilne skupine v lipidnih repih povišajo prag elektroporacije (molekularna dinamika). Zamenjava esterskih vezi z etrskimi pa še dodatno zviša prag elektroporacije [2]. Zgradili smo modela AI in AGI molekul in iz njih zgradili dvosloje. Ugotovili smo, da imajo dvosloji arheolipidov zelo visok prag elektroporacije. Razlog za to je posebna struktura membrane in nizka dinamika lipidov in njihovih glav (članek v pripravi). Opazili smo tudi, da se pora, ki nastane v lipidnem dvosloju, ne stabilizira z reorganizacijo lipidnih molekul, kot je to običajno pri fosfolipidih [3]. Vsem arheolipidnim dvoslojem smo izračunali tudi profil elektronske gostote in jih primerjali s SAXS meritvami, ki so jih naredili partnerji iz Katedre za fizikalno kemijo Fakultete za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Ljubljani. Simulacije molekularne dinamike smo naredili v sodelovanju s tujim zunanjim partnerjem na projektih (laboratorij Équipe Théorie Simulations et Modélisation, Université de Lorraine, Francija). Poleg arheolipidov smo z molekularno dinamiko in eksperimenti proučevali tudi druge ravninske lipidne dvosloje. Opazili smo tvorbo por v POPC ravninskem lipidnem dvosloju in jo primerjali s porami na modelih molekularne dinamike [4]. Prav tako kot v POPC lipidnem dvosloju, smo tudi v POPS lipidnem dvosloju opazili tvorbo por. Primerjava s simulacijami molekularne dinamike je pokazala, da v POPS lipidnem dvosloju nastanejo prevodne hidrofobne pore, tako kot v dvoslojih zgrajenih iz arheolipidov [5].

Pregledali in ovrednotili smo različne modele nastajanja por v lipidnih membranah in transporta molekul preko lipidnega dvosloja [6].

DS 2 (Arheosomi/liposomi):

V okviru projekta smo izolirali in karakterizirali polarne etrske lipide. Za pripravo in študij arheosomov/liposomov je bilo potrebno izolirati dovolj biomase za izolacijo membranskih lipidov *A. pernix*. Optimizirali smo rastne pogoje za rast arhej, kar nam zadošča za produkcijo arheolipidov za naše pouzkuse [7]. Raziskovali smo stabilnost arheosomov in mešanih liposomov. Ugotovili smo, da že dodatek 5% arheolipidov drastično zmanjša fazni prehod. Čisti arheolipidi imajo zanemarljivo majhno entalpijsko spremembo, torej nimajo faznega prehoda. Nizki dodatki arheolipidov (5%) prispevajo tudi k stabilnosti veziklov (MLV– multilamelarni, LUV– veliki unilamelarni, SUV– majhni unilamelarni). Opravljeni sta bili tudi raziskavi temperaturne odvisnosti sproščanja kalceina v mešanih liposomih in anizotropije. Ugotovili smo, da NaCl v okolnem mediju zniža prepustnost arheosomov pri povečevanju temperature, ne vpliva pa na položaj tališča. Pri liposomih iz drugih lipidov (DPPC, DSPC, DPPG, DPPE in DBPC) pa vpliva tako na prepustnost veziklov kot tudi na tališče. Za vgraditev (enkapsulacijo) zdravil v arheosome/liposome smo uspešno izdelali različne arheosome (MLV, SUV), ki smo jih napolnili z reporterskimi (kalcein), ki smo jih uporabili v poskusih [8]. V arheosome smo uspešno vgradili kemoterapevtik bleomicin. Pri bleomicinu, ki je velika molekula in zato problematična za vgrajevanje v vezikle, smo ugotovili, da se pri koncentraciji 1000 μM bleomicina v veziklih enkapsulira 20% bleomicina.

Z nanosekundnimi in mikrosekundnimi električnimi pulzi smo skušali elektroporirati različne liposome (LUV, MLV, SUV; zgrajenih iz ARH, DPPC, PC), vendar nismo zaznali poracije liposomov. Niti z uporabo surfaktanta C_{12}E_8 niti s pomočjo sonoporacije nam ni uspeli doseči poracije čistih in mešanih liposomov, kar nam dokazuje veliko stabilnost liposomov z dodatkom arhejskih lipidov.

Z metodo končnih elementov smo zgradili model nanosekundne elektroporacije arheosoma/liposoma. Obravnavali smo model celice z jedrom ter mitohondriji in liposomi, postavljenimi na različna mesta v citoplazmi. V model smo vključili tudi časovno in napetostno spremenljivo membransko prevodnost, s čimer smo modelirali elektroporacijo. Razvit model smo nato uporabili za določanje parametrov nanosekundnih pulzov, potrebnih za elektroporacijo liposomov. Preverili smo tudi, kako na elektroporacijo liposomov vpliva sama velikost liposomov ter električne lastnosti zunajceličnega medija, celice in liposoma [9]. Izračuni so pokazali, da je pri elektroporaciji liposomov najpomembnejša njihova velikost. Manjši liposomi namreč zahtevajo znatno višje jakosti električnega polja. Na podlagi izračunov smo ugotovili, da se liposomi zaradi svoje majhne velikosti naelektrijo v približno 10 ns. To pomeni, da z daljšanjem dolžine pulza nad 10 ns ne bi bistveno znižali jakosti električnega polja, ki je potrebna za elektroporacijo liposomov [10].

DS 3 (Celice *in vitro*):

V okviru sklopa Celice *in vitro* smo najprej preučili vpliv različnih parametrov električnih pulzov

na celice CHO in B16-F1 in sicer na prepustnost celične membrane ter na preživetje celic. Pri tem smo uporabili generatorja nanosekundnih pulzov izdelana v Laboratoriju za biokibernetiko FE. Ugotovili smo, da se prepustnost celične membrane poveča z večanjem števila, trajanja in amplitude pulzov. Ponavljalna frekvenca ima bolj kompleksen vpliv na prepustnost membrane, kar kaže tudi na dinamično odpiranje in zapiranje por pri elektroporaciji. Poleg tega smo ugotovili, da čisti arheosomi niso toksični za človeške Hep G2 in CACO-2, le rahlo toksični za glodalske CHO in B16-F1 celice in močno toksični za umbilikalne endotelne celice EA.hy926. Mešani liposomi z različnimi deleži arhejskih lipidov in DPPC pa niso toksični za CHO celice. Arheosomi se v celice prenesejo z endocitozo. Vzpostavili smo protokol za učinkovito vnašanje arheosomov v celice in ugotovili, da se čisti arheosomi bolj uspešno prenesejo v celice kot mešani liposomi z DPPC ali čisti DPPC. Vnos je odvisen tudi od vrste celic. V celice, ki niso dovzetne za toksičnost arheolipidov (B16-F1, CHO), smo vnesli arheosome napolnjene z barvilom kalceinom in kemoterapevtikom bleomicinom. Opazili smo, da so arheosomi zelo stabilni, saj posamezne arheosome zasledimo v celicah tudi po treh dneh in da bleomicin bistveno ne vpliva na preživetje celic [11].

Eksperimentalno smo določili vpliv relacije med amplitudo in trajanjem pulza ter amplitudo in številom pulzov na elektroporacijo celic [12]. S simulacijami smo preučili tudi kakšen vpliv imajo različno oblikovani vzbujačni signali na električne in difuzijske parametre pri elektroporaciji [13]. Ti podatki nam omogočajo planiranje in izbiro parametrov elektroporacije za bodoče raziskave tako pri eksperimentih kot tudi pri simulacijah.

Eksperimentalno in s simulacijami smo pokazali, da je z nanosekundnimi pulzi mogoče elektroporirati membrane organelov znotraj celic, vendar pri tem zaznamo tudi poracijo na celični membrani [9,14]. Arheosome znotraj celic smo skušali elektroporirati z uporabo različnih konfiguracij za dovajanje nanosekundnih pulzov. Uporabili smo dva tipa celic (CHO, B16-F1) in različne tipe liposomov (MLV, LUV; čisti arheosomi in mešani z DPPC), vendar v nobenem primeru nismo uspeli zaslediti poracije endocitiranih liposomov. Tudi s sonoporacijo nam ni uspelo razbiti liposomov znotraj celice in sprostiti vsebine v citoplazmo. Ugotovili smo, da so arheosomi izredno stabilni tudi po vstopu v celice [10].

Zgradili smo sklopljen numerični model elektroporacije celice v električnem polju in transporta molekul preko elektroporirane membrane, katerega lastnosti so bile povzete po literaturi. Zgradili smo preprost model elektroporacije celic v sestavih. Ugotovili smo, da lahko v mediju z nižjo prevodnostjo dosežemo selektivno elektroporacijo na območjih membran, ki so hkrati orientirana pravokotno na smer električnega polja in kjer so si celice zelo blizu ali se stikajo med seboj.

Modele elektroporacije in transporta molekul iz DS1 smo uporabili za optimizacijo elektroizlivanja celic različnih velikosti in interpretacijo eksperimentalnih rezultatov, ki so pokazali povečan vnos molekul v celice pri nižji prevodnosti zunajceličnega medija [6].

DS 4 (Tkiva):

Spremljali smo arheosome napolnjene s kalceinom *in vivo* na modelu dorzalnega okna pri miših. Arheosome smo injicirali v 10 miši Balb/c na katerih je bil nasajen tumor T/SA v področju dorzalnega okna. Pri prvih dveh miših smo arheosome injicirali intraorbitalno, vendar nam jih ni uspelo zaznati v krvnem obtoku kar nakazuje, da arheosomi ne morejo vstopiti v žile v orbitalnem sinusu. Pri ostalih 8 miših smo zato arheosome injicirali v repno veno, ter jih nato tudi uspešno zaznali v normalnih in tumorskih žilah. Število arheosomov, ki so krožili po žilah, je s časom hitro padalo. Ugotovili smo tudi, da arheosomi v stiku s krvjo agregirajo. Ekstravazacije arheosomov iz normalnih in tumorskih žil nismo opazili, vendar pa se je kljub temu močno povečala intenziteta fluorescence v tkivu, ki je časovno sovpadala z zmanjševanjem števila arheosomov v žilah. Razlog povečanja intenzitete fluorescence v tkivu smo pripisali razpadu arheosomov, ter posledični prosti difuziji kalceina iz žil v tkivo, kar smo potrdili z opazovanjem njihove stabilnosti v mišjem serumu ter krvi s fluorescenčno mikroskopijo. Stabilnost arheosomov napoljenih s kalceinom *in vivo* smo tudi primerjali s stabilnostjo DOPC veziklov napoljenih s kalceinom, ki so se izkazali za bolj stabilne, saj se število veziklov, ki so krožili v 30 minutah praktično ni spremenilo. Ravno tako nismo opazili povečanja intenzitete fluorescence v tkivu, agregiranja DOPC veziklov ter razpadanja v prisotnosti mišjega seruma ali krvi.

Miši smo slikali tudi 4 h, 24 h in 48 h po injiciranju arheosomov z namenom, da potrdimo, da arheosomi nimajo toksičnega učinka na normalno žilje. Ob vseh časih je bil pretok v normalnih in tumorskih žilah prisoten. Ravno tako nismo opazili nobenih sprememb viabilnosti tkiva. Vse miši so injiciranje arheosomov preživele, kar je prvi podatek o delovanju in netoksičnosti arheosomov iz *A. pernix in vivo*.

Izdelali smo realistične numerične elektroporacije kožne gube in skeletne mišice miši. Modeli so bili zgrajeni iz eksperimentalno določenih podatkov elektroporacije na miših. Ugotovili smo, da

je prevodnost kože eksponentno odvisna od jakosti električnega polja in sigmoidno odvisna za mišično tkivo. Te ugotovitve so pomembne za nadaljnje načrtovanje metod povezanih z elektroporacijo [15].

- [1] A. Polak, *et al.*, J. Membr. Biol. 245 (2012) 625–32.
- [2] A. Polak, *et al.*, J. Membr. Biol. 246 (2013) 843–50.
- [3] A. Polak, *et al.*, et al., Bioelectrochemistry. (2014).
- [4] P. Kramar, *et al.*, J. Membr. Biol. 245 (2012) 651–9.
- [5] F. Dehez, *et al.*, J. Phys. Chem. C. (2014).
- [6] L. Rems, *et al.*, Elektroteh. Vestn. 80 (2013).
- [7] A. Ota, *et al.*, Archaea. 2012 (2012) 285152.
- [8] D. Gmajner, *et al.*, Chem. Phys. Lipids. 164 (2011) 236–45.
- [9] L. Retelj, *et al.*, IEEE Trans. Biomed. Eng. 60 (2013) 2624–35.
- [10] T.B. Napotnik, *et al.*, Med. Biol. Eng. Comput. 48 (2010) 407–13.
- [11] T.B. Napotnik, *et al.*, Hum. Exp. Toxicol. 32 (2013) 950–9.
- [12] G. Pucihar, *et al.*, 58 (2011) 3279–3288.
- [13] D. Miklavcic, *et al.*, Radiol. Oncol. 44 (2010) 34–41.
- [14] T. Batista Napotnik, *et al.*, Bioelectromagnetics. 33 (2012) 257–64.
- [15] S. Čorović, *et al.*, J. Membr. Biol. 245 (2012) 509–20.

4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev³

V projektu smo realizirali večino zastavljenih ciljev. V sklopu ravninski lipidni dvosloji nismo realizirali merjenja fizikalnih lastnosti dvoslojev z dodanim holesterolom in proteini. Prav tako nismo uspeli povezati molekularne dinamike z modeli s končnimi elementi.

V sklopu tkiv nismo realizirali povečanja vstopa arheosomov napolnjenih s kalceinom ter arheosomov napolnjenih z bleomicinom v tumorske celice z uporabo elektroporacije ter kasnejšega sproščanja kalceina ali bleomicina iz arheosomov z uporabo nanosekundnih pulzov. Ravno tako nismo uspeli določiti antitumorskega učinka terapije z arheosomi napolnjenimi z bleomicinom na tumorje T/SA. Razlogi in razlaga je navedena v točki 5 poročila.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁴

V času trajanja projekta smo imeli probleme z merilno komoro sistema za merjenje lastnosti ravninskih lipidnih dvoslojev. Zato so se raziskave nekoliko zakasnilo glede na prvotni plan. V teku so meritve na ravninskih lipidnih dvoslojih z dodakom holesterola. Ker smo glede simulacije molekularne dinamike bili odvisni od tujega partnerja, so se te začele nekoliko pozneje kot je bilo predvideno v projektu. O teh problemih in zakasnitvah smo poročali in razloge navedli že v letnih poročilih. Trenutno delamo na tem, da povežemo modele molekularne dinamike in modele končnih elementov. Ta povezava je zelo pomembna pri nadaljnjem raziskovanju elektroporacije in v literaturi še ni bila opisana.

V sklopu tkiv nismo realizirali nekaterih nalog, ker se te navezujejo rezultate iz sklopov arheosomi/liposomi in celice *in vitro*. V teh sklopih smo ugotovili, da imajo arheosomi zelo visok prag elektroporacije. Z elektroporatorji, ki jih uporabljamo nismo zaznali elektroporacije na arheosomih in arheosomih v celicah. Zato ni bilo smiselno delati eksperimentov in modelov na tkivih.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁵

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	4362104	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Elektroporacija lipidnih membran arhej z uporabo MD simulacij
		ANG	Electroporation of archaeal lipid membranes using MD simulations
		Zgradili smo model lipidne membran Arhej Aeropyrum pernix. Modeli so bili simulirani z molekularno dinamiko pri različnih temperaturah. Izpostavitev električnemu polju z metodo neravnovesja nabojev je pokazala, da je	

Opis	SLO	napetost potrebna za elektroporacijo precej višja kot pri fosfolipidih. Študija zajema tudi membrane zgrajene iz mešanic lipidov arhej in DPPC. Dodatne DPPC molekule v membrani arheolipidov zmanjšujejo prag elektroporacije. Profile elektronske gostote modelov membran smo primerjali z eksperimentalnimi meritvami z uporabo SAXS. Dobili smo dobro ujemanje, kar potrjuje dobro izbrane parametre modelov arhelopidov, ki gradijo membrane. Nastanek por v membranah zgrajenih iz arheolipidov je nekoliko drugačna kot pri fosfolipidih. V arhelopidih se tvori prevodna hidrofobna pora, ki se nikoli ne stabilizira z upogibom lipidnih molekul v notranjost, kot je to običajno pri fosfolipidih membranah.	
	ANG	We have constructed the model of lipid membrane of Archaea Aeropyrum pernix. The model of membranes were simulated at different temperatures using molecular dynamics. The membranes were examined to the electric stress. The voltage across the membrane was induced by charge imbalance method. The archaeal membranes were electroporated at much higher voltages than PC-based lipid bilayers. The study also shows the effect of mixing archaeal lipids with DPPC. Addition of DPPC into the archaeal lipid membrane lowers electroporation threshold. The electron density profiles of our membrane models are in good with experimentally measured profiles using SAXS. This give us the confidence in our force field. The creation of the pore under electric field is not similar to PC-based lipids. In the archaeal lipid membrane we observed only conducting hydrophobic pore. The pore never stabilize by bending lipid headgroups into the interior of the membrane.	
	Objavljeno v	Elsevier; Bioelectrochemistry; 2014; str. [1-9, v tisku]; Impact Factor: 3.947; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.084; A': 1; WoS: CQ, CU, DA, HQ; Avtorji / Authors: Polak Andraž, Tarek Mounir, Tomšič Matija, Valant Janez, Poklar Ulrich Nataša, Jamnik Andrej, Kramar Peter, Miklavčič Damijan	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
2.	COBISS ID	9398356	Vir: COBISS.SI
Opis	Naslov	SLO	Sistem za merjenje lastnosti planarnih lipidnih dvoslojev
		ANG	System for measuring planar lipid bilayer properties
		SLO	V članku je opisan sistem za merjenje lastnosti ravninskih lipidnih dvoslojev. Ta je sestavljen iz kontrolne enote, izhodne enote, LCR metra, črpalk za polnjenje in praznjenje prekatov merilne komore, kopeli s temperaturno regulacijo in merilne komore s štirimi elektrodami. Sistem nam omogoča avtomatsko tvorjenje ravninskih lipidnih dvoslojev z metodo dvigovanja gladine vode. Avtomatsko tvorjenje dvoslojev je omogočeno s črpalkama, ki polnita in praznita prekata merilne komore. Merilna komora je vstavljena v kopel, katera omogoča nastavitve temperature ravninskih lipidnih dvoslojev med 15 °C in 55 °C. Sistem lahko ravninske lipidne dvosloje vzbuja z napetostnimi in tokovnimi signali različnih oblik. Iz odziva na vzbujanje lahko določimo kapacitivnost in porušitveno napetost ravninskih lipidnih dvoslojev. Merilni sistem ima mejno frekvenco 11 kHz za napetostno vzbujanje in 17 kHz za tokovno vzbujanje.
	ANG	The paper presents the system for measuring planar lipid bilayer properties. The system is composed of a control unit, an output stage, LCR meter, pumps for filling reservoirs, a bath with temperature regulation and a measurement chamber with four electrodes. The planar lipid bilayer is automatically formed by folding method on apertures of different sizes. The automatization is assured by two syringes which are clamped in actuators. Actuators are driven and controlled by control unit via RS-232 communication. The temperature of planar lipid bilayer can be regulated between 15 °C and 55 °C. The regulation is assured by insertion of	

		measurement chamber into the temperature regulated bath. Different shapes of voltage or current clamp signals can be applied to planar lipid bilayer. By measuring the planar lipid bilayer response to applied signal, planar lipid bilayer capacitance and breakdown voltage can be determined. The cutoff frequencies of the system output stage are 11 kHz and 17 kHz for voltage clamp method and current clamp method respectively.
	Objavljeno v	Springer; 5th international workshop and postgraduate course on electroporation-based technologies and treatments; The journal of membrane biology; 2012; Vol. 245, no. 10; str. 625-632; Impact Factor: 2.478; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.985; WoS: CQ, DR, UM; Avtorji / Authors: Polak Andraž, Mulej Boštjan, Kramar Peter
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID	3924088 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Strukturna karakterizacija liposomov iz diaternih arhejskih lipidov in dipalmitoil-L-[alpha]-fosfatidilholina. <i>ANG</i> Structural characterization of liposomes made of diether archaeal lipids and dipalmitoyl-L-[alpha]-phosphatidylcholine
	Opis	<i>SLO</i> S pomočjo fotonske korelacije, fluorescenčne in elektronske paramagnetne resonančne spektroskopije in transmisijske elektronske mikroskopije smo preučevali fizikalnokemijske lastnosti binarnih lipidnih mešanic dieterskih C (25,25) lipidov in dipalmitoilLfosfatidilholina (DPPC). <i>ANG</i> The physicochemical properties of binary lipid mixtures of diether C(25,25) lipids and dipalmitoylLphosphatidylcholine (DPPC) were studied using photon correlation, fluorescence and electron paramagnetic resonance spectroscopy, and transmission electron microscopy.
	Objavljeno v	North-Holland; Biophysical chemistry; 2011; Vol. 158; str. 150-156; Impact Factor: 2.203; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 3.171; WoS: CQ, DA, EI; Avtorji / Authors: Gmajner Dejan, Ahlin Grabnar Pegi, Tušek-Žnidarič Magda, Štrus Jasna, Šentjunc Marjeta, Poklar Ulrich Nataša
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	9484628 Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i> Karakterizacija elektroporacije lipidne membrane na molekularnem nivoju z pod vplivom linearno naraščajočega toka <i>ANG</i> Molecular-level characterization of lipid membrane electroporation using linearly rising current
	Opis	<i>SLO</i> Predstavljena je eksperimentalna in teoretična študija elektroporacije ravninskih lipidnih dvoslojev vzbuanih z linearno naraščajočim tokom. Opazili smo manjše padce transmembranske napetosti, kateri predstavljajo odpiranje in zapiranje por v lipidnem dvosloju. Te smo modelirali s ekvivalentnim elektronskim vezjem in molekularno dinamiko. Ugotovili smo, da imajo pore premer 5 nm in prevodnost v rangu 100 nS. <i>ANG</i> We present experimental and theoretical results of electroporation of small patches of planar lipid bilayers by means of linearly rising current. We recorded small voltage drops preceding the breakdown of the bilayer due to irreversible electroporation. These voltage drops were often followed by a voltage re-rise within a fraction of a second. Modeling the observed phenomenon by equivalent electric circuits showed that these events relate to opening and closing of conducting pores through the bilayer. Molecular dynamics simulations performed under similar conditions indicate that each event is likely to correspond to the opening and closing of a single pore of about 5 nm in diameter, the conductance of which ranges in the 100-nS scale.

	Objavljeno v	Springer; 5th international workshop and postgraduate course on electroporation-based technologies and treatments; The journal of membrane biology; 2012; Vol. 245, no. 10; str. 651-659; Impact Factor: 2.478; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.985; WoS: CQ, DR, UM; Avtorji / Authors: Kramar Peter, Delemotte Lucie, Maček Lebar Alenka, Kotulska Małgorzata, Tarek Mounir, Miklavčič Damijan	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
5.	COBISS ID	10507348	Vir: vpis v poročilo
	Naslov	<i>SLO</i>	Nastanek prevodne hidrofobne nanopore preko membrane pod vplivom električnega polja
		<i>ANG</i>	Evidence of conducting hydrophobic nanopores across membranes in response to an electric field
	Opis	<i>SLO</i>	Trenutna teorija elektroporacije temelji na nastajanju hidrofилnih por v membrani. Te se stabilizirajo s prerazporeditvijo lipidnih glav v notranjost membrane. V članku smo pokazali, da lahko ioni prehajajo tudi skozi hidrofobno poro, ki ni stabiliziran z lipidnimi glavami.
		<i>ANG</i>	Current electroporation theory assumes that the membrane is permeabilized through the formation of conducting hydrophilic pores, stabilized by rearrangement of lipid head groups. Here we have performed molecular dynamics simulations of negatively charged lipid bilayers subject to high transmembrane voltages together with electroporation experiments on planar bilayers. Our data reveal a hitherto unknown electroporation process in which large ion-conducting water columns not stabilized by lipid head groups are formed within the bilayer's hydrophobic core.
	Objavljeno v	Washington, D.C. : American Chemical Society; Evidence of conducting hydrophobic nanopores across membranes in response to an electric field; 2014; Vol. 118, no. 13; str. 6752-6757; Impact Factor: 2.478; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.985; WoS: CQ, DR, UM; Avtorji / Authors: Dehez François, Delemotte Lucie, Kramar Peter, Miklavčič Damijan, Tarek Mounir	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁶

	Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID		Vir: vpis v poročilo
	Naslov	<i>SLO</i>	Zaposlitev v gospodarstvu
		<i>ANG</i>	Employment in economy
	Opis	<i>SLO</i>	Dejan Gmajner se je po pridobitvi doktorata zaposlil v gospodarstvu, v podjetju v AKVAMI d.o.o.
		<i>ANG</i>	After obtaining a PhD degree, Dejan Gmajner was employed in economy, in AKVAMI Ltd. company.
	Šifra	F.07 Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Objavljeno v	Vir: vpis v poročilo	
	Tipologija	3.25 Druga izvedena dela	
2.	COBISS ID		Vir: vpis v poročilo
	Naslov	<i>SLO</i>	Elektroporacija v biologiji, biotehnologiji in medicini
		<i>ANG</i>	Electroporation based Technologies and Treatments.
			V letih 2011, 2012 in 2013 smo organizirali mednarodno šolo

	Opis	SLO	Elektroporacija v biologiji, biotehnologiji in medicini . V šoli so bile vključeni vaji o elektroporaciji ravninskih lipidnih dvoslojen in simulacijah molekularne dinamike.
		ANG	Organization of international school Electroporation based Technologies and Treatments in 2011, 2012 and 2013. At the practical work of school we included electroporation of planar lipid bilayers and molecular dynamic simulations of membrane electroporation.
	Šifra	B.01 Organizator znanstvenega srečanja	
	Objavljeno v	Vir: vpis v poročilo	
	Tipologija	3.25 Druga izvedena dela	
3.	COBISS ID	8803668	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Modeliranje izpostavitve biološke celice nanosekundnim električnim pulzom
		ANG	Model of a biological cell exposed to nanosecond electrical pulses
	Opis	SLO	Proučili smo vpliv nanosekundnih polzov na vezikle in mitohondrije znotraj celice. Ugotovili smo, da položaj veziklov in mitohondrijev v celici ni pomemben, razen če se ti nahajajo v neposredni bližini celičnega jedra. Dejavniki, ki na elektroporacijo vplivajo v večji meri pa so električne lastnosti celice in zunajceličnega medija, pri čemer bi imeli največje možnosti za selektivno elektroporacijo veziklov v primeru nižje prevodnosti citoplazme. S primerjavo izpostavitve celice pulzu dolžine 50 ns in 10 ns smo pokazali, da bi bilo za elektroporacijo veziklov smiselno uporabiti pulze s krajšim trajanjem, saj bi s takšnimi pulzi povzročili manj poškodb na celični membrani. Vendar pa so naši izračuni tudi pokazali, da je selektivna elektroporacija 50 nm veziklov (arheosomov) malo verjetna, saj se sočasno elektroporirajo tudi celična membrana, membrana jedra ter membrane večjih veziklov in mitohondrijev. Iz naših rezultatov sledi, da bi bilo za elektroporacijo arheosomov z ns pulzi potrebno izbrati čim krajše pulze, hkrati pa skrbno izbrati njihovo amplitudo. Na ta način bi zmanjšali poškodbe celične membrane in ostalih organelov, s tem pa omogočili boljše preživetje celic po elektroporaciji.
		ANG	The nanosecond electroporation of vesicles in cells and mitochondria was studied. The results showed that the position of vesicles and mitochondria does not have a considerable impact on its ITV unless the vesicles (or mitochondria) are positioned close to the nucleus. A more pronounced effect on electroporation of vesicles was observed when electrical parameters of the model e.g. medium and cytoplasm conductivity were reduced. By comparing the responses to 50 ns and 10 ns pulse we also demonstrated that shorter pulses are less damaging to the cell membrane, therefore providing a higher chance for selective electroporation of vesicles. However, our calculations show that selective electroporation of smaller, 50 nm vesicles (archaeosomes) is highly unlikely as the cell membrane and membranes of other organelles are electroporated as well, regardless of the medium conductivity, cytoplasm conductivity and internal archaeosome conductivity. Our results indicate that for electroporation of archaeosomes the pulse duration should be reduced as possible and the pulse amplitude should be carefully considered.
Šifra	F.35 Drugo		
Objavljeno v	[L. Retelj]; 2011; 48 str.; Avtorji / Authors: Rems Lea		
Tipologija	2.25 Druge monografije in druga zaključena dela		
4.	COBISS ID	259208960	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Fizikalnokemijske lastnosti arheosomov, pripravljenih iz polarnih lipidov hipertermofilne arheje <i>Aeropyrum pernix</i> K1
		ANG	Physical and chemical properties of archaeosomes prepared from polar

		lipids of hyperthermophilic Archaeon <i>Aeropyrum pernix</i> K1
Opis	SLO	Celična membrana hipertermofilne in striktno aerobne arheje <i>Aeropyrum pernix</i> K1 je sestavljena iz edinstvene kombinacije lipidov, kar ji omogoča preživetje pri temperaturah tudi več kot 100°C. Pri fizikalnokemijski karakterizaciji arheosomov, pripravljenih iz očiščenih arheolnih C25,25 lipidov, smo ugotovili veliko stabilnost na različne okoljske vplive (temperatura, pH). Preverjali smo tudi učinke arhejskih C25,25 lipidov na izbranih človeških celičnih linijah in vitro in sicer citotoksičnost in interakcije lipidnih veziklov s celicami.
	ANG	Cell membrane of strictly aerobic hyperthermophilic Archaeon <i>Aeropyrum pernix</i> K1 consists of a unique combination of lipids, which enables it to survive at temperatures over 100°C. Arheosomes prepared from purified archaeal C25, 25 lipids were characterized physicochemically, showing a great stability to the different environmental effects (temperature, pH). We examined the effects of archaeal C25, 25 lipids on selected human cell lines in vitro, through cytotoxicity and interaction of lipid vesicles with cells.
Šifra	F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj
Objavljeno v	[D. Gmajner]; [Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti]; 2011; XI, 79 f.; Avtorji / Authors: Gmajner Dejan	
Tipologija	2.08	Doktorska disertacija

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁷

Francosko-slovensko znanstv. sodelovanje: Projekt BI-FR/10-11-PROTEUS-001 (2010-2011) : Elektroporacija ravninskih lipidnih dvoslojev; poizkusi in modeliranje. Dr. Mounir Tarek, CNRS, Univerza Henri Poincaré, Nancy. Projekt je pomemben za utrjevanje sodelovanja s Francoskim laboratorijem na področju modeliranja na osnovi molekularne dinamike.

Ameriško-slovensko znanstv. sodelovanje : Projekt BI-US/11-12-009 (2011-2012) . Optimizacija parametrov pulzov za elektroporacijo celičnih organelov. Prof. dr. Thomas Vernier, University of Southern California, Los Angeles, ZDA. Projekt je pomemben za raziskovanje učinkov nanosekundnih pulzov na celice, predvsem na njihove notranje strukture.

COST project (FA1001): The application of innovative fundamental food-structure-property relationships to the design of foods for health, wellness and pleasure. Uporaba inovativnih strukturno-funkcionalnih korelacij za pripravo hrane za zdravje, dobro počutje in zadovoljstvo.

Uporaba električnih polj v biologiji in medicini: Francosko-slovenski združeni evropski laboratorij: LEA-EBAM (2011-2014).

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁸

9.1. Pomen za razvoj znanosti⁹

SLO

V okviru projekta smo naredili modele lipidnih membran arhej. Do sedaj ti lipidi še niso bili objavljeni v literaturi. Lipidi, ki sestavljajo lipidne membrane arhej, imajo posebno strukturo. Z molekularno dinamiko smo postoma preučili, kako posamezne strukture v lipidih molekulah vplivajo na stabilnost lipidnih dvoslojev. Ugotovili smo, da so membrane zelo stabilne, če jih izpostavimo električnemu polju. Deformacije v membrani pod vplivom električnega polja se razlikujejo od deformacij v drugih lipidnih membranah. To pojasnjuje zakaj v membrano ne prehajajo velike molekule. Te raziskave prispevajo k boljšemu razumevanju povezave med lipidno sestavo membran in njihovo stabilnostjo.

Izboljšali smo pogoje gojenja *A. pernix* ter tako omogočili produkcijo zadostne biomase za

potrebe raziskav naše skupine ter za sodelovanja z drugimi raziskovalnimi skupinami. Komercialno dostopni arheolipidi imajo na trgu zelo visoko ceno (500 mg stane 60.000 evrov – Avanti lipids), kar bi v bodoče prineslo tudi ekonomsko konkurenčnost na trgu. Razvili smo tvorjenje lipidnih dvoslojev iz arheolipidov, izdelavo različnih veziklov iz arheolipidov (MLV– multilamelarni, LUV– veliki unilamelarni, SUV– majhni unilamelarni; GUV – orjaški unilamelarni vezikli), ki smo jih napolnili z reporterskimi molekulami, ugotavljanje entalpijskih sprememb in kalorimetrijo, nanoporacijo celic z nanosekundnimi električnimi pulzi različnih parametrov.

Zaradi poznavanja lastnosti različnih sistemov iz arheolipidov, ki jih lahko tvorimo, jih lahko v bodoče uporabimo tudi za aplikativne raziskave (npr. vnos molekul v celice, preko kože). Svoje znanje lahko v bodoče uporabimo tudi za razvoj novih tehnologij (razvoj novih sistemov za produkcijo biomase, nanosekundnih generatorjev pulzov z ustreznimi parametri itd.).

ANG

We constructed molecular dynamic models of archaeal lipids, which have not been described in the literature before. The archaeal lipids have special structure. Using molecular dynamic simulations, we investigated the effect of special moieties to the stability of bilayers. The results showed high stability of the archaeal lipid bilayers under electric field. The deformations are different than in regular lipid membranes. This explains why big molecules do not cross the archaeal lipid bilayer. This research improves the understanding of the relation between lipid composition and stability.

We improved the growth of *A. pernix* and assure the biomass for research needs. The price of archaeal lipids is namely very high. We develop production of archaeal lipids, archaeosomes, which were loaded with substances. We measured enthalpy differences and calorimetry and nanoporation of cells.

Due to good understanding of properties of archaeal lipids, we can use this knowledge for other technological and applied projects. New knowledge can be also used to develop the technology improvements (biomass production, nanosecond pulse generators...).

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹⁰

SLO

Projekt je privedel do novih znanstvenih spoznanj na področju temeljnih raziskav mehanizmov elektroporacije, ki kljub intenzivnemu raziskovanju in uporabi v kliniki še niso popolnoma razjasnjeni. Poseben pomen našega projekta je bila povezava različnih raziskovalnih skupin v novo interdisciplinarno celoto, ki je s pomočjo različnih pristopov uspela zagotoviti razvoj področja preučevanja elektroporacije bioloških membran. K sodelovanju smo povabili Katedro za fizikalno kemijo Fakultete za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Ljubljani, kateri so naredili meritve elektronske gostote arhealnih lipidnih veziklov in mešanic z DPPC-jem. Simulacije molekularne dinamike smo naredili v sodelovanju z laboratorijem Équipe Théorie Simulations et Modélisation, Université de Lorraine (Francija), ki je eden od vodilnih v Evropi za simulacije na osnovi molekularne dinamike. MD je danes ena od najperspektivnejših metod v preučevanju dogodkov v bioloških sistemih na molekularni ravni. S tem bomo tudi Slovenijo vpeli v mednarodno dogajanje na tem področju raziskovanja.

ANG

The project provided us with better understanding of fundamental mechanisms of electroporation. In spite of broad use of electroporation detailed molecular mechanisms are not yet known. We established fruitful collaboration between different research groups and intensified existing by focusing on the electroporation of biological membranes. We established new collaborations with the Faculty of Chemistry and Chemical Technology (University of Ljubljana) and further intensified collaboration with Équipe Théorie Simulations et Modélisation (Université de Lorraine, Francija). The electron density profiles of archaeal lipid vesicles and their mixtures with DPPC were measured at The Faculty of Chemistry and Chemical Technology. The molecular dynamic simulations were done at the Équipe Théorie Simulations et Modélisation, which is one of the leading laboratory in molecular dynamic simulations. This collaboration improves current status of Slovenia in the international research on molecular dynamic simulations.

10. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

Komentar

<input type="text"/>

11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

	in javne uprave					
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.09.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

Komentar

--

12.Pomen raziskovanja za sofinancerje¹¹

	Sofinancer	
1.	Naziv	
	Naslov	
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:	EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:	%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja	Šifra
	1.	
	2.	
	3.	
	4.	
	5.	
Komentar		
Ocena		

13.Izjemni dosežek v letu 2013¹²**13.1. Izjemni znanstveni dosežek**

Na področju molekularne dinamike izvajamo simulacije, s katerimi lahko razložimo procese na molekularni ravni v kombinaciji z eksperimentalnimi podatki. Tako smo simulirali lipidni dvosloj zgrajen iz AI in AGI molekul. Ti dve molekuli sestavljata membrano arheje Aeropyrum pernix.
--

Lipidni dvosloj smo izpostavili električnemu polju. Pod vplivom električnega polja je najprej voda prodrla v lipidni dvosloj (vode žice), nato pa se je pora razširila. Preko razširjene pore so ioni prešli lipidni dvosloj. Lipidne glave molekul se niso upognile v notranjost lipidnega dvosloja in stabilizirale poro, kot je to običajno pri fosfolipidih. Takšen pojav v literaturi še ni bil opisan.

13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

Francosko-slovenskemu združenemu evropskemu laboratoriju se je priključila Univerza na Primorskem (Uporaba električnih polj v biologiji in medicini LEA-EBAM 2011-2014).

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za
elektrotehniko

Damijan Miklavčič

ŽIG

Kraj in datum:

Ljubljana	4.4.2014
-----------	----------

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2014/28

¹ Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

² Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

³ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

⁴ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁵ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)

⁶ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih

raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

⁷ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁸ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

⁹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

¹² Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2013 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2014 v1.02
72-7C-24-78-BA-1D-81-8D-C6-4C-05-1D-7E-05-B1-9C-0F-F8-5D-0C

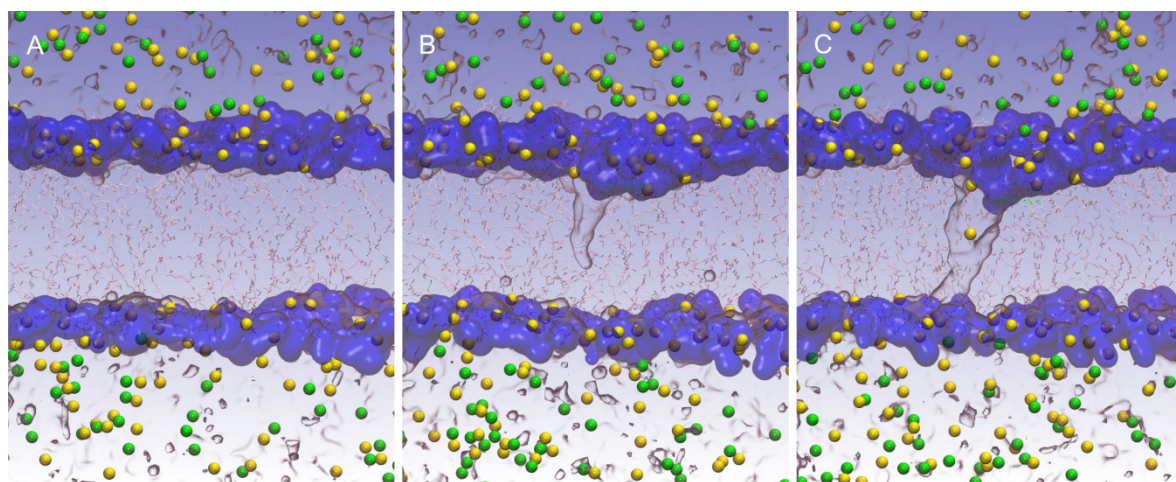
Priloga 1

Veda: TEHNIKA

Področje: 2.06 – Sistemi in kibernetika

Dosežek 1: Elektroporacija lipidnega dvosloja zgrajenega iz lipidov arheje *Aeropyrum pernix* (simulacija molekularne dinamike).

Vir: A. Polak, M. Tarek, M. Tomšič, J. Valant, N. P. Ulrih, A. Jamnik, P. Kramar, and D. Miklavčič, "Electroporation of Archaeal Lipid Membranes using MD Simulations," *Bioelectrochemistry*, Jan. 2014.



Elektroporacija lipidnega dvosloja zgrajenega iz AI in AGI molekul (simulacija molekularne dinamike). A) Lipidni dvosloj brez deformacij, B) Lipidni dvosloj z vodno žico, C) Lipidni dvosloj s prevodno hidrofobno poro (modra - glave lipidnih molekul, rumena – kalijeve ioni, zelena – klorovi ioni, siva - voda)

Na področju molekularne dinamike izvajamo simulacije, s katerimi lahko razložimo procese na molekularni ravni v kombinaciji z eksperimentalnimi podatki. Tako smo simulirali lipidni dvosloj zgrajen iz AI in AGI molekul. Ti dve molekuli sestavljata membrano arheje *Aeropyrum pernix*. Lipidni dvosloj smo izpostavili električnemu polju. Pod vplivom električnega polja je najprej voda prodrla v lipidni dvosloj (vode žice), nato pa se je pora razširila. Preko razširjene pore so ioni prešli lipidni dvosloj. Lipidne glave molekul se niso upognile v notranjost lipidnega dvosloja in stabilizirale poro, kot je to običajno pri fosfolipidih. Takšen pojav v literaturi še ni bil opisan.